

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Pengamatan pada penelitian ini dilakukan di hari ke-3, ke-5 dan ke-7 setelah semua hewan coba kelompok sampel diulserasi. Lesi akan timbul setelah mukosa labial hewan coba diberi trauma *thermal* menggunakan burnisher yang telah dipanasi sebelumnya. Tampak gambaran lesi ulser berbentuk bulat sampai dengan oval, dasar lesi berwarna putih kekuningan dan dikelilingi batas tepi yang eritema.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) terhadap jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*). Ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) yang sudah terbentuk kemudian diformulasikan dalam bentuk gel menggunakan *gelling agent* carbomer, karena carbomer memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi dan toksisitas yang rendah.

Hasil analisis data dari penelitian ini berdasarkan uji *one way Anova* yang telah dilakukan, menunjukkan rata-rata jumlah limfosit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki perbedaan. Pada kelompok perlakuan, rata-rata jumlah limfosit lebih rendah dibandingkan rata-rata jumlah limfosit kelompok kontrol. Jumlah limfosit terbanyak pada kelompok kontrol terjadi pada hari ke-5 pasca ulserasi kemudian mengalami penurunan pada hari ke-7. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nugroho (2005), bahwa limfosit akan muncul bersamaan dengan makrofag dan jumlah bermakna pada hari kelima. Sedangkan jumlah

limfosit terbanyak pada kelompok perlakuan terjadi pada hari ke-3 dan semakin lama jumlah limfosit mengalami penurunan sampai hari ke-7. Hal ini menandakan pada kelompok perlakuan, proses penyembuhan luka berjalan lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol karena limfosit pada kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) teraktivasi terlebih dahulu.

Jumlah limfosit kelompok perlakuan memiliki rata-rata jumlah limfosit lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol pasca ulserasi tidak diberi gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) sehingga proses peradangan tidak ditekan, akhirnya menyebabkan jumlah limfosit lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan. Hal ini sesuai pernyataan Tizard (2003) bahwa apabila terjadi peradangan kemudian diberikan suatu bahan tertentu maka akan mengurangi reaksi yang memperparah inflamasi itu sendiri sehingga proses penyembuhan berlangsung cepat.

Senyawa polifenol yang terkandung dalam gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) memiliki efek menekan produksi sitokin proinflamasi yang mempunyai potensi sebagai inhibitor produksi prostaglandin dan leukotrien dengan menghambat jalur siklooksigenase dan lipooksigenase. Mekanisme menghambatnya dengan pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotelial dan menghambat proliferasi dan eksudasi dari proses inflamasi. Penekanan sitokin tersebut akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga emigrasi dari limfosit ke area radang juga menurun sehingga berpengaruh pada peningkatan jumlah limfosit. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang

dilakukan oleh Madhavi dkk. (2012), bahwa kandungan senyawa polifenol memiliki aktivitas menghambat produksi prostaglandin.

Menurut Chang *et al.*(2011b) senyawa yang terkandung dalam gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) mampu mempercepat pengaktifan limfosit. Limfosit yang teraktivasi dapat menghasilkan berbagai mediator kimiawi termasuk IFN- $\gamma$  yaitu suatu sitokin perangsang utama untuk mengaktifasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi saling mengaktifasi limfosit dan sel lainnya yang nantinya akan bekerja sama dalam proses inflamasi hingga peradangan hilang (Robbins *et al.*, 2007). Jumlah limfosit yang menurun tidak berhubungan dengan aktivasinya dalam pengeluaran sitokin, sehingga jumlah limfosit yang meningkat belum tentu aktivasinya lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah limfosit yang menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nitawati dkk. (2014), bahwa untuk melihat aktivasi dari sel limfosit dipengaruhi oleh berbagai hal dan prosedurnya menggunakan pewarnaan imunohistokimia. Jadi, karena limfosit teraktivasi terlebih dahulu untuk menjalankan tugasnya dalam proses inflamasi, maka peradangan berjalan lebih cepat sehingga proses penyembuhan luka berjalan lebih cepat.

Berdasarkan uji Post Hoc yang telah dilakukan untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara signifikan sebagai lanjutan uji *one way Anova*, didapatkan rata-rata jumlah limfosit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-5 berbeda secara signifikan. Jumlah limfosit kelompok perlakuan mengalami penurunan mulai hari ke-3 dan berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol pada hari ke-5. Hal ini menandakan daerah luka pada kelompok perlakuan sudah memasuki fase proliferasi dalam tahap penyembuhan luka. Gambaran klinis mukosa labial pasca ulserasi kelompok kontrol dan

kelompok perlakuan (gambar terlampir), menunjukkan kondisi luka kelompok perlakuan mulai membaik dengan tepi luka berwarna seperti jaringan sekitar dan mulai mengering serta luasnya mulai menyempit. Rata-rata jumlah limfosit kelompok kontrol meningkat pada hari ke-5 dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ke-5. Perbedaan ini dapat dikatakan sebagai respon imun lokal yang ditandai dengan masih adanya partikel asing, sehingga lebih tingginya jumlah limfosit pada kelompok kontrol dibandingkan dengan jumlah limfosit kelompok perlakuan menunjukkan bahwa antigen masih banyak terdapat pada kelompok kontrol sehingga tubuh akan merespon dengan keluarnya limfosit lebih banyak untuk membentuk limfokin yang berfungsi mengaktifkan makrofag. Jika daerah luka terdapat banyak antigen, maka tubuh akan merespon limfosit keluar untuk menghasilkan antibodi (Guyton and Hall, 2008).

Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui hubungan lamanya pemberian ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) dengan jumlah limfosit pada kelompok perlakuan menunjukkan hubungan yang cukup kuat. Adanya penurunan rata-rata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan hari ke-3 kemudian menurun di hari ke-5 dan ke-7 disertai dengan gambaran makroskopis pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) semakin lama menunjukkan perbaikan jaringan di daerah luka. Hal ini dikarenakan pemberian gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) pada kelompok perlakuan mampu mempercepat aktivasi limfosit segera setelah terjadinya luka, sehingga mempercepat pembentukan jaringan granulasi dan terjadi epitelisasi di daerah luka yang menandai penyembuhan luka masuk ke tahapan selanjutnya. Proses tersebut sesuai dengan pernyataan Cookbill (2002), bahwa pada penyembuhan luka jumlah

limfosit yang ada dengan perlakuan yang sama akan mengalami penurunan dan memasuki fase penyembuhan berikutnya.

Penurunan rata-rata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) berpengaruh pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik. Cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) memiliki komponen bioaktif yaitu polifenol dan G-90 glycolipoprotein. Komponen polifenol pada cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) dapat mempercepat aktivasi limfosit sebagai salah satu sel radang dalam fase inflamasi penyembuhan luka (Chang *et al.*, 2011b). Setelah limfosit teraktivasi, limfosit melepaskan limfokin (*interferon  $\gamma$* ) yang berpengaruh terhadap aktivasi makrofag dalam mekanisme fagositosis bersama limfosit. Makrofag yang telah diaktivasi oleh limfosit, menghasilkan beberapa produk biologis berupa *nitric oxide* (NO) dan *reactive oxygen species* (ROS) yang berperan dalam aktivitas fagositosis, serta menghasilkan faktor pertumbuhan berupa *Fibroblast Growth Factor* (FGF) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru dan proliferasi fibroblas (Robbins *et al.*, 2007; Widjajanto, 2005). Komponen lain yang terkandung pada cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) yaitu G-90 glycolipoprotein yang mampu mempercepat proliferasi fibroblas yang berperan meregenerasi jaringan pada proses *wound healing*, sehingga secara tidak langsung mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka (Chang *et al.*, 2011b).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) berpengaruh menurunkan jumlah limfosit serta mempercepat proses penyembuhan luka ulkus

traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun tidak diterima atau ditolak.

